

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2014/49



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1.Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	Z1-4302
Naslov projekta	Razvoj in optimizacija kliničnega potenciala tolerogenih dendritičnih celic in imunomodulatorna vloga lektinskega receptorja DC-SIGN
Vodja projekta	26198 Urban Švajger
Tip projekta	Z Podoktorski projekt
Obseg raziskovalnih ur	2550
Cenovni razred	A
Trajanje projekta	07.2011 - 06.2013
Nosilna raziskovalna organizacija	311 Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	1 NARAVOSLOVJE 1.09 Farmacija
Družbeno-ekonomski cilj	07. Zdravje
Raziskovalno področje po šifrantu FOS	1 Naravoslovne vede 1.07 Druge naravoslovne vede

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

2.Povzetek raziskovalnega projekta¹

SLO

Dendritične celice (DC) zavzemajo heterogeno populacijo najpomembnejših antigenov (Ag) predstavljajočih celic (APC) in lahko izzovejo tako aktivacijske kot regulatorne imunske procese (Banchereau, 2000; Steinman, 2003).

Pod specifičnimi pogoji, lahko DC pridobijo tolerogene lastnosti. Takšne DC po stiku s celicami T, namesto indukcije letih v različne podtipе efektorskih celic T, povzročijo njihovo anergijo ali celo izzovejo nastanek regulatornih celic T (Steinman, 2003). Popolnoma

aktiviranim, zrelim DC olajša prepoznavo potencialnih Ag-specifičnih limfocitov izražanje kemokinskega receptorja CCR7, ki jih vodi v smer koncentracijskega gradienta kemokinov CCL19 in CCL21 v T-celična območja bezgavk (Forster, 2008). Tolerogene DC (TDC) pridobljene po številnih nedavno odkritih protokolih (Hackstein, 2004), pa zaradi svojih prevladujočih značilnosti nezrelega fenotipa načeloma ne izražajo CCR7. Slednje dejstvo, navkljub izrazitim imunosupresivnim lastnostim različnih TDC (izražanje inhibitornih molekul, proizvodnje imunosupresivnih citokinov), omejuje njihovo zelo obetajočo rabo v terapiji imunskopogojenih bolezni pri ljudeh (Anderson, 2009). Delo v raziskovalnem projektu bo zajemalo raziskave imunoloških mehanizmov ter razvoj protokolov za pridobitev TDC nove generacije z visokim izražanjem CCR7 ter s sposobnostjo migracije pod vplivom kemokinov CCL19 in CCL21.

DCSIGN (Dendritic Cell Specific Intercellular adhesion molecule 3-Grabbing Nonintegrin)

je lektinski receptor, ki ga selektivno izražajo DC. Vpliva na prepoznavanje Ag, celično adhezijo in modulacijo funkcij DC (Svajger, 2010). DC-SIGN prepozna številne virusne (Ebola, HIV1, itd.) in nevirusne patogene (M. tuberculosis, H.pylori, itd.)(van Kooyk, 2003).

Mnogi patogeni izkoriščajo vezavo na DCSIGN, pri čemer povečajo svojo infektivnost in se izognejo klasičnim procesom predstavljanja Ag ter aktivacije DC, kar jim omogoča preživetje v gostitelju (Gringhuis, 2010; den Dunnen, 2009). Zaradi nedavno odkrite imunološke vloge DCSIGN,

obstaja še mnogo vprašanj glede njegovega vpliva na razvoj in delovanje DC. Prav

tako postaja omenjeni receptor pomembna terapevtska tarča v iskanju novih protimikrobnih učinkovin. Delo v okviru projekta bo zajemalo raziskave imunomodulatorne vloge DC-SIGN, biološko ovrednotenje sinteznih inhibitorjev DC-SIGN, kakor tudi določitev potencialnega agonizma/antagonizma DC-SIGN inhibitorjev.

ANG

Dendritic cells (DCs) include a heterogeneous population of the most important antigen-presenting cells (APCs) and can evoke both effector and regulatory immune responses (Banchereau, 2000; Steinman, 2003).

It is known that under specific conditions, the DCs can acquire tolerogenic characteristics. Such tolerogenic DCs, when interacting with responding T cells induce their anergy or the differentiation of regulatory T cells, instead of effector T cells (Steinman, 2003). When DCs are fully mature they can readily "meet" the responding Ag-specific T cells due to their high expression of the chemokine receptor CCR7, which guides the DCs towards chemokines CCL19 and CCL21, finally homing to T-cell rich areas of secondary lymph nodes (Forster, 2008).

Tolerogenic DCs (TDCs) generated by numerous existing protocols (Hackstein, 2004) however do not express greater quantities of CCR7 due to their extensive immature characteristics. This fact alone, albeit the extensive immunosuppressive properties of TDCs (expression of inhibitory molecules and immunosuppressive cytokines), limits their use in therapy of immune-mediated diseases (Anderson, 2009). Work in this research project will include studies regarding immunological mechanisms and development of protocols to generate s.c. new generation TDCs that express high levels of CCR7 and are able to migrate towards CCL19 and CCL21.

DCSIGN (Dendritic Cell Specific Intercellular adhesion molecule 3-

Grabbing Nonintegrin) is a lecting receptor, selectively expressed by DCs. It influences the recognition of Ags, cellular adhesion and modulates the function of DCs (Svajger, 2010). DC-SIGN recognizes several viral (Ebola, HIV-1) and non-viral pathogens (M. tuberculosis, H. pylori, etc.)(van Kooyk, 2003). Many pathogens use DC-SIGN to increase their infectiveness and thereby avoid classical Ag-presenting pathways and DC maturation, which ensures their survival in the host (Gringhuis, 2010; den Dunnen, 2009). Due to recently discovered immunological role of Dc-SIGN, many questions still exist regarding its role in the development and function of DCs. At the same time, DC-SIGN is becoming an important therapeutic target in the search for novel anti-infective drugs. The work within the project will include studies regarding the immunomodulatory role of DC-SIGN, biological evaluation of synthetic DC-SIGN inhibitors, as well as evaluation their potential agonistic/antagonistic properties.

3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu²

Tekom trajanja projekta Z1-4302 smo na področju kliničnega razvoja tolerogenih dendritičnih celic dosegli načrtovane cilje. Dokončali smo temeljno študijo, ki je vključevala podrobne mehanizme pleiotropičnega delovanja interferona-gamma (IFN-g). Ugotovili smo, da se v najpomembnejših antigene-predstavljalajočih celicah, dendritičnih celicah (DC), ob izpostavitvi visokim koncentracijam IFN-g sproži aktivacijski program, kar vodi v specifično imunosupresivno delovanje DC. Visoke koncentracije IFN-g, sicer značilne za močna vnetna stanja in odsotnost imunske tolerance, presenetljivo pogosto korelirajo z utišanjem različnih vnetnih procesov (avtoimunske bolezni, kronična vnetja), kar je bilo dokazano na živalskih modelih. Mi smo mehanizme, ki stojijo za tem paradoksnim delovanjem želeli preizkusiti na človeških DC, ki pri podobnih procesih igrajo zelo pomembno vlogo in so v tem smislu popolnoma neraziskane. IFN-g pri koncentracijah nad 5000 U/ml inducira v DC tolerogene učinke, pri čemer le-te ne povečajo izražanja določevalcev zorenja kot so ko-stimulacijske molekule ali označevalec CD83. Namesto tega, je izrazito povečano izražanje inhibitornih molekul, imunoglobulinu-podobnih prepisov (ILT)-4 ter molekule HLA-G. Funkcijska narava takšnih DC je izrazito imunosupresivna. DC tretirane z visokimi koncentracijami IFN-g izrazito zavrejo proliferacijo ter vnetni citokinski profil limfocitov T CD4+, vendar niso sposobne inducirati regulatornih karakteristik pri tej vrsti limfocitov. Slednji rezultati so verjetno posledica pasivne tolerance, torej pomanjkanja ko-stimulacijskih signalov, saj nismo uspeli določiti signalizacijskih mehanizmov tovrstne tolerance. Več je bilo mogoče spoznati pri delovanju DC v ko-kulturah z citotoksičnimi limfociti CD8+ (CTL). Citotoksičen odziv je zadnji element kaskade Th1-usmerjenih imunskih odzivov in tudi najagresivnejši. Kot tak zahteva tudi največjo mero povratne regulacije. DC, ki smo jih tretirali z visokimi odmerki IFN-g so v ko-kulturah z naivnimi limfociti CD8+ signifikantno in obsežno preprečile aktivacijo teh celic v CTL. To se je videlo v zmanjšanem izražanju grancima B in nižjem obsegu proliferacije CTL. Za pglavitni mehanizem DC pri supresiji CTL smo določili signalno pot povezano z izražanjem HLA-G. Blokada HLA-G z nevtralizacijskim protitelesom je namreč skoraj popolnoma preprečila imunosupresijski učinek DC, tretiranih z IFN-g. S to študijo smo odkrili nov mehanizem in način, kako DC med močnimi vnetnimi procesi, zaznamovani z visokimi koncentracijami IFN-g, pridobijo tolerogene lastnosti in posledično ublažijo odgovor citotoksičnega imunskega odgovora. Iz rezultatov smo objavili znanstveni članek v letošnji januarski izdaji revije Journal of Leukocyte Biology. Članek je bil zaradi pomembnosti odkritja uvrščen med t.i. "Leading Edge Research" in je omenjen na naslovnici letošnje januarske številke.

<http://www.jleukbio.org/content/95/1.toc> - povezava do revije

Dodatno smo nadgradili delo z raziskovanjem klinično zelo interesantne populacije gamma/D-DC, ki smo jo odkrili na začetku delovanja našega projekta. Le-to pridobimo z

izkoriščanjem imunosupresijske sinergije med IFN-gamma in aktivno obliko vitamina D3. Tovrstne DC izražajo izjemno povečane količine inhibitornih molekul ILT-2, ILT-3, ILT-4, HLA-G, PDL-1 ter do neke mere tudi FasL. Vse omenjene površinske molekule dokazano prispevajo k tolerogenosti DC z izjemno imunosupresijsko funkcionalnostjo. Odkrili smo, da kljub visokemu izražanju kemokinskega receptorja CCR7, omenjena populacija le stežka migrira v smer kemokinov CCL-19 in CCL-21. Migracija je malenkostno povečana ob prisotnosti prostaglandina E2, vendar ne signifikantno v primerjavi s kontrolami. Kljub temu, imajo gamma/D-DC izjemne tolerogene karakteristike, pri čemer so sposobne utišati tudi delovanje spominskih limfocitov T CD4+. To dejstvo veliko pove o medicinski uporabnosti teh celic za namene naprednega zdravljenja alogenskih presadkov, kjer igrajo spominski limfociti CD4+ pomembno vlogo pri akutni zavrnitvi. Iz rezultatov smo pripravili objavo, ki je trenutno poslana v presojo v European Journal of Immunology.

Istočasno smo odkrili nove načine priprave DC s superiornimi tolerogenimi lastnostmi. Pri tem smo odkrili pomembnosti sinergije IFN-g in ostalimi imunosupresivnimi elementi, kot so kortikosteroidi ter interleukin (IL)-10. Spoznali smo, da t.i. »priming« efekt IFN-g ni značilen le za ojačanje imunogenosti DC, temveč deluje tudi v obratni smeri, z drugimi besedami ojača tolerogen učinek znanih imunosupresivnih elementov. Karakteristike tovrstnih DC so podobne kot gamma/D-DC, vendar se razlikujejo v stopnji izražanja CCR7, ki je načeloma manjša. Omenjene raziskave končujemo in bomo pred poletjem začeli s pripravo 2-eh objav.

Delo na področju »imunomodulatorne vloge lektinskega receptorja DC-SIGN« smo tekom trajanja projekta Z1-4302 opravili po načrtu. V sodelovanju s skupino izr. Prof. Marka Anderluha na fakulteti za farmacijo (katedra za farmacevtsko kemijo) smo odkrili nove antagoniste omenjenega receptorja na manozni osnovi. Receptor DC-SIGN namreč predstavlja poglavitno vstopno mesto za virus HIV preko virusnega plaščnega proteina gp120. Po vezavi na DC-SIGN in internalizaciji, lahko določen odstotek virusa HIV preživi v DC dlje časa in nato v sekundarnih limfatičnih organih po stiku DC z limfociti T, okuži še te. Namen antagonistov DC-SIGN je vezava na mesto, kjer se veže HIV in preprečitev virusne infektivnosti. Na tak način bi preprečili virusno okužbo v njenih najzgodnejših stadijih razvoja. Odkrili in biološko ovrednotili smo več spojin z IC_{50} vrednostmi v zgornjem mikromolarnem območju in dve spojini z IC_{50} v spodnjem mikromolarnem območju. Rezultate smo objavili v ugledni reviji European Journal of Medicinal Chemistry v članku z naslovom "Monovalent mannose-based DC-SIGN antagonists: targeting the hydrophobic groove of the receptor".

Dodatno smo v letu 2013 pripravili pregledni članek z naslovom "Tolerogenic dendritic cells: molecular and cellular mechanisms in transplantation." Članek je bil sprejet in objavljen v januarški številki (2014) revije Journal of Leukocyte Biology.

4. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev³

Podoktorski projekt Z1-4302 je bil sestavljen iz dveh ciljev in z njima povezanih hipotez:

1. Odkriti mehanizme in nove protokole za pripravo tolerogenih dendritičnih celic nove generacije, ki jih odlikujejo izjemne tolerogene lastnosti ob istočasnem izražanju kemokinskih ligandov, ki te celice posledično vodijo v sekundarna limfatična tkiva.
2. Preučiti imunomodulatorne aspekte receptorja DC-SIGN izraženega na dendritičnih celicah ter preučiti biološke lastnosti novih sinteznih ligandov receptorja DC-SIGN.

1. V kontekstu prvega cilja smo potrdili naše osnovne hipoteze in odkrili nove načine pridobivanja tolerogenih dendritičnih celic (TDC). Pridobljene TDC so izkazovale nad-povprečne tolerogene lastnosti, pri čemer so izražale zelo visoke stopnje inhibitornih molekul ILT3, ILT4, HLA-G ter PDL-1. Tovrstne TDC so prav tako izkazovale izjemno funkcijsko tolerogenost, saj so v visoki meri zavirale aktivacijo tako CD4+ kot CD8+ limfocitov T. Odkrili smo, da je IFN-gamma zaslužen za indukcijo tolerogene sinergije na dendritičnih celicah v sodelovanju z drugimi imunosupresivnimi molekulami, kot so IL-10, aktivna oblika vitamina D3 ter s kortikosteroidi. Sinergija IFN-gamma z aktivno obliko vitamina D3 vodi v izrazit tolerogen fenotip dendritičnih celic ob istočasno povečani ekspresiji kemokinskega receptorja CCR7. Odzivnost CCR7 na kemokinske ligande CCL19 in CCL21 je bila pod pričakovanjem, vendar je potrebno poudariti, da je migracijsko lastnost tovrstnih TDC potrebno oceniti tudi v in vivo pogojih, ki se v mnogočem razlikujejo od in vitro testov. Tekom projekta Z1-4302 smo v sklopu prvega cilja objavili 3 članke, od katerih sta 2 objavljena v mednarodni reviji s faktorjem vpliva (Svajger, J Leuk Biol, 2014: 33-46; Svajger, J Leuk Biol, 2014: 53-69; Svajger, Zdravniški Vestnik, 2013). Plod rezultatov je tudi slovenska patentna prijava: P-201000129

2. V kontekstu drugega cilja smo v sodelovanju z izr. prof. Markom Anderluhom pripravili in biološko ovrednotili nove monovalentne ligande receptorja DC-SIGN. Nove sintezne spojine smo objavili v reviji European Journal of Medicinal Chemistry. Spojine smo biološko ovrednotili, določili afiniteto vezave na receptor DC-SIGN in ovrednotili njihovo citotoksičnost. Raziskave na področju imunomodulatorne vloge DC-SIGN smo razširili na določitev sposobnosti specifičnega prepoznavanja majhnih molekul s strani DC-SIGN in posledične internalizacije, ki je posredovana s strani DC-SIGN. Pri tem smo izbrali pristop visoko-občutljive fluorescenčne mikroskopije, kar nam je omogočilo da smo ligande DC-SIGN, ki smo jih predhodno konjugirali s fluorescenčno probo, spremljali intracelularno. Na tak način smo prvi, ki smo pokazali, da se majhne molekule lahko specifično internalizirajo preko DC-SIGN. Članek iz omenjenega dela je v pripravi.

V sklopu drugega cilja smo tekom projekta pripravili 2 članka. Eden je že objavljen v marčevski številki revije European Journal of Medicinal Chemistry. Drugi je v pripravi in bo oddan do poletja.

5. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine⁴

Sprememb v smislu programa raziskovalnega projekta ali sestave projektne skupine ni bilo.

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	3499633	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Okolje bogato z IFN-gama usmeri dendritične celice v smer utišanja citotoksičnih imunskih odzivov
		ANG	IFN-[gamma]-rich environment programs dendritic cells toward silencing of cytotoxic immune responses
			Zadnje časa je vedno več dokazov, ki poudarjajo regulatorno vlogo IFN-gama (IFN-g), ki služi kot mehanizem negativne povratne zanke po npr. odstranitvi patogenov, z namenom preprečitve nepotrebnih poškodb okoliških tkiv. Za vnetne procese, ki vključujejo Th1 in citotoksične odzive, so značilne visoke, lokalne koncentracije IFN-g, čemur sledi utišanje imunskega odgovora.. Kljub temu, da so opisani procesi znani, ne obstajajo poročila, ki bi ocenila potencialno modulatorno vlogo IFN-g v okolju glede na njegovo kvantitativno razpoložljivost. V tej študiji prikazujemo, da visoki odmerki IFN-g ne sprožijo zorenja in aktivacije DC, ampak namesto tega inducirajo specifične regulatorne značilnosti. Glede na fenotip DC, visoki

	Opis	SLO	odmerki IFN-g izjemno povečajo izražanje inhibitornih molekul ILT-4 in HLA-G. Znan spodbujevalni učinek IFN-g na DC, v smislu povečanega izločanja IL-12p70 po stimulaciji zorenja, se pri visokih odmerkih IFN-g izgubi. V tem smislu se citokinski profil DC prevesi v povečano razmerje IL-10/IL-12p70 po stimulaciji s CD40L. Nadalje, takšne DC so sposobne utišati odzive citotoksičnih CD8+ limfocitov T, kar se kaže v zmanjšani proliferaciji in izražanju grancima B. Dodatno smo pokazali, da imunomodulacija visokih doz IFN-g ni posledica encimatske aktivnosti encima IDO, ampak je odvisna od signalizacije preko HLA-G, kar lahko preprečimo z nevtralizacijskimi protitelesi. V povzetku, naši rezultati prikazujejo nov mehanizem, ki igra vlogo v okoljih značilnih za odzive vrste Th1. Pri tem se spremeni funkcijski status DC in jim omogoči da le-te utišajo citotoksične odzive in preprečijo neželjeno uničenje okoliških tkiv in prekomerno vnetje.	
		ANG	Lately, there is increasing evidence that emphasizes the regulatory functions of IFN-gamma, which serve as negative-feedback mechanisms after, e.g., pathogen clearance, to prevent unnecessary tissue destruction. Inflammatory processes involving Th1 and cytotoxic responses are characterized by high, local IFN-gamma concentrations, followed by resolution and immune silencing. Although this is a well-known course of events, extensive attempts to address potential differential effects of IFN-gamma in the manner of its availability (quantitatively) in the environment do not exist. We demonstrate that high doses of IFN-gamma do not induce DC maturation and activation but instead, induce specific regulatory characteristics in DCs. Considering their phenotype, high doses of IFN-gamma extensively induce the expression of ILT-4 and HLA-G inhibitory molecules. Interestingly, the well-known priming effect of IFN-gamma for IL-12p70 production is lost at these conditions, and the DC cytokine profile is switched toward an increased IL-10/IL-12p70 ratio upon subsequent stimulation with CD40L. Furthermore, such DCs are capable of silencing cellular immune responses and activation of cytotoxic CD8+ T lymphocytes, resulting in reduced cell proliferation and down-regulation of granzyme B expression. Additionally, we find that in this manner, immune regulation mediated by IFN-gamma is not mainly a result of increased enzymatic activity of IDO in DCs but rather, a result of HLA-G signaling, which can be reversed by blocking mAb. Altogether, our results identify a novel mechanism by which a Th1-like environment programs the functional status of DCs to silence ongoing cytotoxic responses to prevent unwanted tissue destruction and inflammation.	
		Objavljeno v	Liss; Journal of leukocyte biology; 2014; Vol. 95, no. 1; str. 33-46; Impact Factor: 4.568; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 4.093; A': 1; WoS: DR, MA, NI; Avtorji / Authors: Švajger Urban, Obermajer Nataša, Jeras Matjaž	
		Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
2.	COBISS ID	3534449	Vir: COBISS.SI	
	Naslov	SLO	Tolerogene dendritične celice: molekularski in celični mehanizmi v transplantaciji	
		ANG	Tolerogenic dendritic cells: molecular and cellular mechanisms in transplantation	
			Med odkrivanju mehanizmov, ki narekujejo imunske aktivacije in supresije, so tisti, ki pritičejo imunski toleranci vedno zaostajali za imunske aktivacije. To je posledično oblikovalo napredek v klinični translaciji terapevtskih protokolov na osnovi DC, ki se uporabljajo za imunostimulacijo ali imunosupresijo. Med več kot sto prijavljenimi kliničnimi študijami, ki uporabljajo vaccine na osnovi DC za celične terapije raka, je le nekaj takšnih, ki uporabljajo tolerogene DC v smislu negativne vakcinacije. Navkljub temu, močna znanstvena in strokovna podlaga iz predkliničnih in kliničnih študij narekuje povečano uporabnost negativnih DC vakcin za	

	Opis	SLO	namene transplantacije v prihodnosti. S spoznavanjem s tem povezanih celičnih in molekulskih mehanizmov je vloga DC v vzpostavitvi transplantacijske tolerance priznana kot osrednja v dvosmernem dialogu z različnimi imunskimi celičnimi tipi. Slednje se doseže preko številnih, med sabo povezanih tolerogenih signalov, ki vključujejo citokine in druge, bodisi površinsko vezane ali topne inhibitorne molekule, vse v povezavi z odgovarjajočimi signalizacijskimi kaskadami. Podrobno poznavanje teh procesov bo nedvomno pospešilo napredke kliničnih imunologov v translaciji njihovega znanja iz laboratorijev do pacientove postelje. V tem preglednem članku bomo predstavili vlogo TolDC, kot tudi najnovejša dognanja povezana z molekulskimi in celičnimi mehanizmi, ki oblikujejo ravnotežje med regulatornimi in efektorskimi imunskimi odgovori med transplantacijo.	
		ANG	During the discovery of mechanisms that govern immune activation and suppression, immune tolerance always came second in the scientific timeline. This has subsequently shaped the advances in the clinical translation of DC therapy protocols used for immunostimulation or immunosuppression. With several hundred clinical trials already registered within the U.S. National Institutes of Health for the use of DCs in cancer vaccination, only a few involve TolDCs for use as negative vaccines. However, as a result of the strong scientific rationale from preclinical and clinical trials, the use of negative vaccination in organ transplantation is likely on its way to reach the extent of the use of positive cancer vaccines in the future. As the underlying mechanisms emerge, the role of DCs in the induction of transplant tolerance is recognized unambiguously as central in the bidirectional communication with various types of immune cells. This is achieved by a complex interplay of numerous tolerogenic signals involving regulatory cytokines and other surface-bound or soluble inhibitory molecules associated with corresponding inhibitory signaling cascades. A detailed understanding of these processes will accelerate the advances of clinical immunologists in translating their knowledge from bench to bedside. In this review, we present the role of TolDCs as well as the most recent findings concerning associated molecular and cellular mechanisms that shape the balance between regulatory and effector immune responses during organ transplantation.	
		Objavljeno v	Liss; Journal of leukocyte biology; 2014; Vol. 95, issue 1; str. 53-59; Impact Factor: 4.568; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 4.093; A': 1; WoS: DR, MA, NI; Avtorji / Authors: Švajger Urban, Rožman Primož	
		Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
3.	COBISS ID	3602033		Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Monovalentni antagonisti DC-SIGN na manozni osnovi: ciljanje hidrofobnega utora na receptorju	
		ANG	Monovalent mannose-based DC-SIGN antagonists: targeting the hydrophobic groove of the receptor	
	Opis	SLO	DC-SIGN (Dendritic cell-specific, intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin) je lektin tipa C, izražen specifično na dendritičnih celicah. Predstavlja primarno mesto prepoznavne in vezave vstopa patogenov in kot tak obetajoča terapevtska tarča za inhibicijo patogenskega vstopa in posledično preprečitev okužbe imunskih celic. V članku poročamo o načrtovanju in sintezi antagonistov DC-SIGN osnovanih na D-manozi, ki nosijo z diarilom substituiran 1,3-diaminopropanolne ali glicerolne enote vključene na način, da ciljajo hidrofoben utor receptorja. Načrtovane glikomimetike smo ocenili v in vitro testu, ki je ocenjeval sposobnost inhibicije HIV-1 proteina gp120 na izolirano ekstracelularno domeno DC-SIGN. Spojini 14d in 14e, ki sta prikazali IC50 vrednost 40 uM in 50uM, sta med najmočnejšimi monovalentnimi antagonisti DC-SIGN do zdaj.	

		Antagonističen učinek vseh sinteznih spojin smo nadalje ocenili z celičnim in vitro testom, osnovanem na inhibiciji adhezije dendritičnih celic preko DC-SIGN. spojine 14d, 14e, 18d in 18e so se izkazale kot funkcijski antagonisti adhezije dendritičnih celic. Način vezave 14d smo tudi ocenili z molekulskim sidranjem in simulacijo molekulske dinamike. Ti rezultati so pokazali fleksibilnost spojine 14d v vezavnem mestu in predstavljajo temelje za nadaljne optimizacije.	
	ANG	Dendritic cell-specific, intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin (DC-SIGN) is a C-type lectin expressed specifically on dendritic cells. It is a primary site for recognition and binding of various pathogens and thus a promising therapeutic target for inhibition of pathogen entry and subsequent prevention of immune defense cell infection. We report the design and synthesis of D-mannose-based DC-SIGN antagonists bearing diaryl substituted 1,3-diaminopropanol or glycerol moieties incorporated to target the hydrophobic groove of the receptor. The designed glycomimetics were evaluated by in vitro assay of the isolated DCSIGN extracellular domain for their ability to compete with HIV-1 gp120 for binding to the DC-SIGN carbohydrate recognition domain. Compounds 14d and 14e, that display IC50 values of 40 ŽM and 50 ŽM, are among the most potent monovalent DC-SIGN antagonists reported. The antagonistic effect of all the synthesized compounds was further evaluated by a one-point in vitro assay that measures DC adhesion. Compounds 14d, 14e, 18d, and 18e were shown to act as functional antagonists of DC-SIGN-mediated DC adhesion. The binding mode of 14d was also studied by molecular docking and molecular dynamics simulation, which revealed flexibility of 14d in the binding site and provides a basis for further optimization.	
	Objavljeno v	Edifor; European Journal of Medicinal Chemistry; 2014; Vol. 75; str. 308-326; Impact Factor: 3.499;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.567; A': 1; WoS: DX; Avtorji / Authors: Tomašić Tihomir, Hajšek David, Švajger Urban, Luzar Jernej, Obermajer Nataša, Petit-Haertlein Isabelle, Fieschi Franck, Anderluh Marko	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
4.	COBISS ID	3194737	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Antagonisti DC-SIGN, potencialen nov razred proti-mikrobnih učinkovin
		ANG	DC-SIGN antagonists, a potential new class of anti-infectives
	Opis	SLO	DC-SIGN (Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin) je lektin tipa C, razreda II, ki deluje kot adhezijska molekula na površini dendritičnih celic (DC). Prav tako sodeluje pri nekaterih funkcijah DC kot so migracija, prepoznavna patogenov, internalizacija in procesiranje antigenov in pomaga pri vezavi DC na celice T. Znano je, da HIV-1 vstopa v DC preko vezave na DC-SIGN. Pri tem se virus izogne normalnem litičnem transportu v ednosomih in s tem imunskemu nadzoru. Podoben mehanizem preživetja so odkrili tudi za nekatere druge patogene. Zaradi teh dejstev je DC-SIGN zanimiva tarča za razvoj novi proti-mikrobnih učinkovin, ki bi blokirale interakcijo patogenov z DC-SIGN. V tem preglednem članku bomo razložili razvoj antagonistov DC-SIGN s poudarkom na razvoju glikomimetikov. Na podlagi dejstva, da DC-SIGN veže oligo- in polisaharide na manozni in fukozni osnovi so načrtovali učinkovite strukturne mimetike, ki so inhibirali interakcijo DC-SIGN s patogeni. Nadalje, nedavne in vitro študije so pokazale, da antagonisti DC-SIGN učinkovito blokirajo transmisijo patogenov kot je HIV-1 in Ebola na CD4+ limfocite T. Navkljub dejstvu, da DC-SIGN še ni bil ocenjen kot primerna tarča in vivo, pričakujemo prihod novih DC-SIGN antagonistov kot novo in obetajočo skupino proti-mikrobnih učinkovin.
			DC-SIGN (Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin) is a type II C-type lectin that functions as an

	ANG	adhesion molecule located on dendritic cells (DCs). It enables some of the functions of DCs, including migration, pathogen recognition, internalisation and processing, and their binding to T cells. HIV-1 has been reported to enter DCs by being bound to DC-SIGN, escaping the normal lytic pathway in DCs' endosomes and avoiding the immune system defence system. A very similar mechanism of survival has been observed for some other pathogens. This makes DC-SIGN a receptor of interest in the design of distinctive anti-infectives that would inhibit DC-SIGN-pathogen interaction by blocking the very first step in pathogen infection. In this review we outline the development of DC-SIGN antagonists, focusing mainly on a glycomimetic approach. Based on the fact that DC-SIGN binds mannose- and fucose-based oligo- and polysaccharides, their structural mimics have been designed and proved to inhibit pathogen-DC-SIGN interaction. Furthermore, recent in vitro studies have demonstrated that DC-SIGN antagonists block effectively the transmission of pathogens like HIV-1 and Ebola to CD4+ T cells. Although DC-SIGN has not been validated in vivo as a druggable target yet, we await future DC-SIGN antagonists as a new and highly promising group of novel anti-infectives.
Objavljeno v		Bentham Science Publishers; Current medicinal chemistry; 2012; Vol. 19, no. 7; str. 992-1007; Impact Factor: 4.070; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.729; A': 1; WoS: CQ, DX, TU; Avtorji / Authors: Anderluh Marko, Jug Gregor, Švajger Urban, Obermajer Nataša
Tipologija		1.02 Pregledni znanstveni članek

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁶

	Družbeno-ekonomski dosežek		
1.	COBISS ID	3212145	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Metoda določanja intrinzične aktivnosti sinteznih zaviralcev receptorja DC-SIGN
		ANG	Method for determining the intrinsic activity of synthetic DC-SIGN inhibitors
	Opis	SLO	Tekom intenzivnih študij, ki so pripeljale do predloženega izuma, so tukajšnji izumitelji ugotovili, da lahko sklepamo o potencialnem agonizmu/antagonizmu sinteznih zaviralcev DC SIGN oz. njihovi intrinzični aktivnosti z metodo, ki zagotavlja gojenje dendritičnih celic v prisotnosti ali odsotnosti sinteznih zaviralcev DC-SIGN ob hkratni aktivaciji celic z TLR agonisti oz. brez njih. Predloženi izum torej po prvem vidiku predstavlja metodo za določitev intrinzične aktivnosti sinteznih zaviralcev DC-SIGN na podlagi modulacije citokinskega profila dendritičnih celic ob prisotnosti ali odsotnosti TLR agonistov. Predloženi izum zagotavlja tudi uporabo metode za določevanje intrinzične aktivnosti sinteznih zaviralcev DC-SIGN za načrtovanje in sintezo novih sinteznih zaviralcev DC SIGN. Istočasno predloženi izum zagotavlja uporabo omenjene metode za oceno terapevtskega potenciala sinteznih zaviralcev DC-SIGN kot protimikrobnih učinkovin.
		ANG	In the present invention which is the result of intensive studies, the inventors have discovered the possibility to speculate on the potential agonism/antagonism of synthetic DC-SIGN inhibitors or their intrinsic activity with a method, that ensures culturing of dendritic cells (DCs) in the presence or absence of synthetic DC-SIGN inhibitors with simultaneous activation with or without TLR agonists. The proposed invention therefore firstly represents a method to determine the intrinsic activity of synthetic inhibitors of DC-SIGN based on the modulation of DCs' cytokine profile. The proposed invention also ensures the use of this method to determine the intrinsic activity of synthetic DC-SIGN inhibitors. At the same time, the

		proposed invention ensures the use of this method to evaluate the therapeutic potential of synthetic DC-SIGN inhibitors as anti-microbial agents.
	Šifra	F.33 Patent v Sloveniji
	Objavljeno v	Urad RS za intelektualno lastnino; 2011; 6 str.; Avtorji / Authors: Švajger Urban, Anderluh Marko, Jeras Matjaž
	Tipologija	2.23 Patentna prijava
2.	COBISS ID	3511409 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Testni sistem za določanje zaviralnega delovanja antagonistov receptorja DC-sign in vitro
		ANG Test system to determine the inhibitory activity of DC-SIGN antagonists in vitro
	Opis	SLO V magistrskem delu smo razvili in optimizirali testni sistem v in vitro pogojih, ki omogoča določanje inhibitornega delovanja potencialnih antagonistov receptorja DC-SIGN. Ovrednotili smo učinkovitost posameznih potencialnih ligandov, katerih delovanje je bilo usmerjeno na inhibicijo DC-SIGN-a, odgovornega za prenos infekcije s HIV. Učinkovitost smo ovrednotili s pomočjo pretočne citometrije. Testni sistem bomo poskušali vpeljati kot rutinski test za določanje inhibitornih konstant novim sintetiziranim spojinam. Tovrstne raziskave bodo pripomogle k oblikovanju potencialnih proti-mikrobnih zdravilnih učinkovin.
		ANG In our work a test system for the determination of potential antagonists of the receptor DC-SIGN in vitro was developed and optimized. Effectiveness of potential ligands which are focused on the inhibition of DC-SIGN responsible for transmission of HIV infection was evaluated. Efficiency of the system was evaluated with flow cytometry. The test system will be used as a routine test for the determination of inhibitory constants of novel synthetic DC-SIGN antagonists. The research will be used as a tool for development of potential anti-infective compounds.
	Šifra	D.10 Pedagoško delo
	Objavljeno v	[T. Sevnik]; 2013; VII, 45 f.; Avtorji / Authors: Sevnik Tina
	Tipologija	2.09 Magistrsko delo
3.	COBISS ID	7900537 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Sinergija interferona-γ in interleukina-10 pri indukciji imunosupresivnega aktivacijskega stanja v dendritičnih celicah
		ANG Synergy of interferon-gamma and interleukin-10 in induction of immunosuppressive activation state in dendritic cells.
	Opis	SLO V delu smo dokazali sinergijo med citokinoma IFN-γ in IL-10 v indukciji tolerogenega fenotipa in funkcije v človeških dendritičnih celicah
		ANG In this work we have demonstrated the synergy between the cytokines IFN-γ and IL-10 in inducing a tolerogenic phenotype and function in human dendritic cells.
	Šifra	D.10 Pedagoško delo
	Objavljeno v	[P. Šafarič Tepeš]; 2013; XIV, 79 f.; Avtorji / Authors: Šafarič-Tepeš Polona
	Tipologija	2.11 Diplomsko delo
4.	COBISS ID	6852473 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Vzpostavitev testnega sistema za določanje morebitnega agonizma ali antagonizma inhibitorjev receptorja DC-SIGN
		ANG Establishment of a test system to determine potential agonism or

		antagonism of DC-SIGN inhibitors
Opis	SLO	Poglavitni namen naše študije je vzpostavitev testnega sistema za določanje morebitnega agonizma oz. antagonizma inhibitorjev DC-SIGN. Za razvoj sinteznih ligandov oz. inhibitorjev potrebujemo informacije o njihovem vplivu na signalizacijske poti po vezavi na DC-SIGN, ki posledično lahko spremenijo profil izražanja citokinov in na koncu imunski odziv, ki ga sprožijo DC. Takol lahko pridemo do natančnejših odgovorov o načrtovanju bodočih ligandov in njihovem terapevtskem potencialu.
	ANG	The main purpose of our study was the establishment of a test system for determining of potential agonism/antagonism of DC-SIGN inhibitors. For development of novel DC-SIGN ligands/inhibitors we need information regarding their potential capacity to induce DC-SIGN-mediated signaling and therefore influence the immune response mediated by DCs. In this way we can better answer questions arising during design and development of novel DC-SIGN ligands and evaluate their therapeutic potential.
Šifra		D.10 Pedagoško delo
Objavljeno v		[T. Pavlek]; 2011; IX, 52 f.; Avtorji / Authors: Pavlek Tea
Tipologija		2.11 Diplomsko delo
5.	COBISS ID	513978393 Vir: vpis v poročilo
Naslov	SLO	Journal of Translational Medicine
	ANG	Journal of Translational Medicine
Opis	SLO	[London] : Biomed Central.
	ANG	[London] : Biomed Central.
Šifra		C.04 Uredništvo mednarodne revije
Objavljeno v		Journal of Translational Medicine
Tipologija		4.00 Sekundarno avtorstvo

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine²

Rezultati so navedeni pod točkama 6. in 7.

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁸

9.1. Pomen za razvoj znanosti²

SLO

Imunska toleranca je tekom razvoja imunoloških znanosti vedno zaostajala en korak za ugotovitvami na področju imunske aktivacije. Na področju dendritičnih celic (DC) lahko mehanizme, ki omogočajo njihovo aktivacijo oz. toleranco uporabljamo v kliničnem smislu v kontekstu pozitivnih oz. negativnih vakcin na osnovi DC. Medtem, ko danes obstaja več sto prijavljenih kliničnih študij uporabe DC vakcin za boj proti raku, je uporaba tolerogenih DC zaenkrat še v manjšini. To dejstvo ne priča o manjši uporabnosti tolerogenih DC, le o kasnejšem napredku na področju izzivanja imunske tolerance s celičnimi vakcinami, kar postavlja raziskave na tem področju v ospredje.

Tekom projekta Z1-4302 smo odkrili nove načine in vitro/ex vivo manipulacije človeških DC, s katerimi lahko te celice "obdarimo" z nadpovprečnimi tolerogenimi lastnostmi. Odkrili smo pomemben mehanizem negativne povratne zanke interferona-gamma (IFN-γ), ki pri visokih koncentracijah, značilnih za močne Th1-usmerjene T-celične odgovore, inducira izjemne tolerogene lastnosti DC, ki naknadno v veliki meri utišajo odzive citotoksičnih limfocitov T tipa

CD8+. Študijo smo razvili v odkritje prej nepoznatih obstoječih sinergij med IFN-g in specifičnimi imunosupresivnimi dejavniki, kot so IL-10, aktivna oblika vitamina D3 ter kortikosteroidi. Kombinacija IFN-g s prej naštetimi dejavniki vodi v nadaljno nadgradnjo imunosupresivnih lastnosti DC, ki močno presegajo tolerogene učinke posameznih komponent. Dodatno smo spoznali, da kombinacija IFN-g in vitamina D3 poleg tolerogenega fenotipa inducira povečano izražanje kemokinskega receptorja CCR7, ki vodi imunske celice v sekundarna limfatična tkiva, kar je ključnega pomena za dostopnost DC do odgovarjajočih limfocitov T in indukcijo regulatornih limfocitov T.

Odkritje omenjenih mehanizmov in protokolov, ki omogočajo ustrezno ex-vivo manipulacijo človeških DC v smer imunske tolerance je predmet aktualne tematike, katere sadovi bodo prinesli nova orodja za boj imunsko-pogojenih bolezni, za katere je značilna prekomerna aktivnost imunskega sistema.

Pomen drugega dela projekta temelji na raziskavah povezanih z nedavno odkritim receptorjem DC-SIGN, ki je selektivno izražen na DC. DC-SIGN predstavlja pomemben površinski označevalec, saj predstavlja poleg antigensko-prepoznavne ter signalizacijske vloge tudi mesto vstopa številnih patogenov kot so virusi (HIV, Ebola, ...) ter patogene bakterije (M. tuberculosis, H. pylori, ...). V sodelovanju s fakulteto za farmacijo, Univerze v Ljubljani, smo tekom projekta odkrili nove sintezne inhibitorje receptorja na manozni osnovi. Potencialna raba tovrstnih antagonistov DC-SIGN je v preprečitvi začetnega stadija infekcije DC s strani patogenov, ki izkoriščajo omenjeni receptor za okužbo celic. Omenjene ligande smo tudi biološko ovrednotili in poročali o spojinah z IC50 vrednostmi v nizkem mikromolarnem območju.

ANG

Within the immunological sciences, the discoveries in immune tolerance always somewhat lagged behind those dealing with immune activation. In the field of dendritic cells (DCs), the mechanisms that enable their activation or tolerance, can be subsequently applied in the clinical context of using either positive or negative vaccines based on DCs. While there are already several hundred clinical studies using DCs as cancer vaccines registered within NIH (National Institute of Health), there are only a few using tolerogenic DCs as negative vaccines. This fact does not highlight minor significance of tolerogenic DCs, but is only a reflection of a slower development in the field of evoking immune tolerance using cellular vaccines. This fact highlights the importance of intensive research in this field.

Work in the project Z1-4302 led to discovery of new ways to manipulate human DCs in vitro/ex vivo in terms of augmenting these cells with superior tolerogenic characteristics. We discovered an important negative-feedback mechanism involving interferon-gama (IFN-g), which, when present at high concentrations like those characteristic for strong Th1-directed T cell responses, induces extensive tolerogenic characteristics in DCs. Such DCs can subsequently silence the responses of cytotoxic CD8+ T cells. The study was further developed which led to discovery of, previously unknown, synergistic tolerogenic effects between IFN-g and specific immunosuppressive molecules such as IL-10, the active form of vitamin D3 and corticosteroids. Combinations of IFN-g with above mentioned immunosuppressive factors induces superior immunosuppressive characteristics in DC, which significantly exceed the tolerogenic effects of these agents by themselves. Additionally, we have discovered that the combined effect of IFN-g and vitamin D3 greatly induces the expression of the chemokine receptor CCR7, which directs DCs to secondary lymphoid tissues. this is of vital importance for DCs to come into contact with responding T cells and to initiate suppressive immunity.

The discovery of mechanisms and protocols that enable appropriate ex-vivo manipulation of human DCs towards immune tolerance is currently a hot topic. Results in this field will bring novel approaches to fight immune-mediated diseases characterized by excessive activity of the immune system.

the second part of the project was based on research associated with recently discovered receptor DC-SIGN, selectively expressed by DCs. DC-SIGN represents an important surface marker since it possess many functions including those associated with Ag-presentation, signaling. It is also a pattern recognition receptor and an entry point for various pathogens. We have discovered novel synthetic inhibitors of DC-SIGN based on the mannose structure. Potential use of such DC-SIGN antagonists lies in the inhibition of DC infection from these pathogens, which use the receptor to infect cells. these DC-SIGN inhibitors were also

biologically evaluated and published with IC50 values in the lower micromolar range.

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

Na področju Slovenije so napredna zdravljenja, natančnejše celične terapije in v ožjem smislu imunoterapije, v zadnjem desetletju naredila velik korak naprej. Pod okriljem Zavoda RS za transfuzijsko medicino, kjer je projekt Z1-4302 potekal, je razvoj naprednih zdravljenj ključnega pomena, saj je del dolgoročne strategije zavoda z velikim poudarkom na klinični translaciji rezultatov raziskav. Imunoterapije povezane z dendritičnimi celicami predstavljajo bodoče orodje za zdravljenje raznolikih imunsko-pogojenih bolezni med katere sodijo različne oblike raka, komplikacije alogenskih transplantacij, avtoimunske in kronično-vnetne bolezni. Na področju negativnih imunskih celičnih terapij (namenjenih za utišanje prekomernih imunskih odzivov) v Sloveniji že izvajamo t.i. ekstrakorporalno fotoferezo, katere mehanizmi so neposredno povezani z imunosupresijo posredovano s strani dendritičnih celic. Odkritja pridobljena tekom projekta Z1-4302 nudijo orodja, s katerimi lahko potencialno optimiziramo tovrstne metode in povečamo tolerogenost celičnega pripravka. Prav tako so podlaga za vpeljavo popolnoma novih celičnih terapij na osnovi DC, ki lahko v razmeroma hitrem času postanejo uporabne v kliniki.

Raziskave na področju receptorja DC-SIGN so zlasti pomembne za razumevanje mehanizmov imunomodulacije posredovane po aktivaciji omenjenega receptorja ter razvoj novih sinteznih inhibitorjev, ki predstavljajo potencialne proti-mikrobne učinkovine. Natančno poznavanje vloge DC-SIGN v imunskem sistemu je ključno za boj proti številnim patogenom, ki receptor izkoriščajo za okužbo celic imunskega sistema. Pomembnost tovrstnih odkritij je na področju Slovenije nedvomno v zaščiti intelektualne lastnine z mednarodnimi patenti, kakor tudi v morebitni ustanovitvi "spin-off" podjetja, ki bi se ukvarjalo z razvojem novih proti-mikrobnih učinkovin.

ANG

In Slovenia, the field of advanced therapies, more specifically cellular therapies and immunotherapies have made a notable advancements in the last decade. Under the auspices of Blood Transfusion Centre of Slovenia, where project Z1-4302 took place, the development of advanced therapies is a central priority, being an important part of long-term strategy of the institution with emphasis on clinical translation. Dendritic cell-associated immunotherapies represent an important future tool to treat various immune-mediated diseases including various types of cancer, complications associated with allogeneic transplantations, as well as autoimmune and chronic inflammatory diseases.

Regarding negative immune cell therapies (intended to silence excessive immune responses) in Slovenia, we already perform s.c. extracorporeal photopheresis (ECP), whose mechanisms are directly associated with immunosuppression mediated by dendritic cells. The discoveries gained during the project Z1-4302 offer novel tools, which could be potentially used to optimize such methods as ECP and increase tolerogenicity of the cellular product. They can also be used to introduce novel cellular therapies based on DCs that can be quickly translated into the clinic.

The discoveries made in the field of DC-SIGN receptor are particularly important for understanding of mechanisms of immunomodulation that occur after receptor activation, as well as for development of novel synthetic inhibitors, which represent potential future anti-microbial drugs. Understanding of the precise role of DC-SIGN in immunity is crucial to fight numerous pathogens, which use the receptor to infect cells of the immune system. The importance of such discoveries in Slovenia is undoubtedly in applications for international patents, as well as in potential establishment of a "spin-off" company, that would pursue the development of novel anti-microbial drugs.

10. Samo za aplikativne projekte in doktorske projekte iz gospodarstva!

Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri projektu, katere konkretne rezultate ste dosegli in v kakšni meri so doseženi rezultati uporabljeni

Cilj	
F.01	Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin

	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.04	Dvig tehnološke ravni	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.05	Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	

F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.11	Razvoj nove storitve	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.13	Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.14	Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.15	Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.16	Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.17	Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE

	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.19	Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.20	Ustanovitev novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.26	Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	

F.27	Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.28	Priprava/organizacija razstave	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.29	Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.30	Strokovna ocena stanja	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.31	Razvoj standardov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.32	Mednarodni patent	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.33	Patent v Sloveniji	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.34	Svetovalna dejavnost	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	

Uporaba rezultatov	
--------------------	----------------------

Komentar

11. Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!
Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visokošolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	☐	☐	☐	☐	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	☐	☐	☐	☐	
G.01.03.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.02	Gospodarski razvoj					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	☐	☐	☐	☐	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	☐	☐	☐	☐	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	☐	☐	☐	☐	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	☐	☐	☐	☐	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	☐	☐	☐	☐	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	☐	☐	☐	☐	
G.02.07.	Večji delež izvoza	☐	☐	☐	☐	
G.02.08.	Povečanje dobička	☐	☐	☐	☐	
G.02.09.	Nova delovna mesta	☐	☐	☐	☐	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	☐	☐	☐	☐	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	☐	☐	☐	☐	
G.02.12.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	☐	☐	☐	☐	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	☐	☐	☐	☐	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	☐	☐	☐	☐	
G.03.04.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.04	Družbeni razvoj					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja	☐	☐	☐	☐	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	☐	☐	☐	☐	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	☐	☐	☐	☐	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	☐	☐	☐	☐	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	☐	☐	☐	☐	
G.04.06.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	

G.05.	Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete	☐	☐	☐	☐	
G.06.	Varovanje okolja in trajnostni razvoj	☐	☐	☐	☐	
G.07	Razvoj družbene infrastrukture					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura	☐	☐	☐	☐	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	☐	☐	☐	☐	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	☐	☐	☐	☐	
G.07.04.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva	☐	☐	☐	☐	
G.09.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	

Komentar

12.Pomen raziskovanja za sofinancerje¹¹

Sofinancer		
1.	Naziv	
	Naslov	
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:	EUR
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:	%
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja	Šifra
	1.	
	2.	
	3.	
	4.	
	5.	
Komentar		
Ocena		

13.Izjemni dosežek v letu 2013¹²**13.1. Izjemni znanstveni dosežek**

13.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

- so vsi podatki, ki jih navajamo v poročilu, resnični in točni
- se strinjamo z obdelavo podatkov v skladu z zakonodajo o varstvu osebnih podatkov za potrebe ocenjevanja ter obdelavo teh podatkov za evidence ARRS
- so vsi podatki v obrazcu v elektronski obliki identični podatkom v obrazcu v pisni obliki
- so z vsebino zaključnega poročila seznanjeni in se strinjajo vsi soizvajalci projekta

Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
raziskovalne organizacije:*

in

vodja raziskovalnega projekta:

Zavod Republike Slovenije za
transfuzijsko medicino

Urban Švajger

ŽIG

Kraj in datum:

Ljubljana	27.3.2014
-----------	-----------

Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2014/49

¹ Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)

² Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

³ Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikost pisave 11) [Nazaj](#)

⁴ V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta, napišite obrazložitev. V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

⁵ Navedite znanstvene dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Raziskovalni dosežek iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A" ali A'. [Nazaj](#)

⁶ Navedite družbeno-ekonomske dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Družbeno-ekonomski rezultat iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A" ali A'.

Družbeno-ekonomski dosežek je po svoji strukturi drugačen kot znanstveni dosežek. Povzetek znanstvenega dosežka je praviloma povzetek bibliografske enote (članka, knjige), v kateri je dosežek objavljen.

Povzetek družbeno-ekonomskega dosežka praviloma ni povzetek bibliografske enote, ki ta dosežek dokumentira, ker je dosežek sklop več rezultatov raziskovanja, ki je lahko dokumentiran v različnih bibliografskih enotah. COBISS ID zato ni enoznačen, izjemoma pa ga lahko tudi ni (npr. prehod mlajših sodelavcev v gospodarstvo na pomembnih raziskovalnih nalogah, ali ustanovitev podjetja kot rezultat projekta ... - v obeh primerih ni COBISS ID). [Nazaj](#)

⁷ Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ni voden v sistemu COBISS). Največ 2.000 znakov, vključno s presledki. [Nazaj](#)

⁸ Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja [Nazaj](#)

⁹ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

¹⁰ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

¹¹ Rubrike izpolnite / prepišite skladno z obrazcem "izjava sofinancerja" <http://www.arrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>, ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava

sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)

¹² Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2013 (največ 1000 znakov, vključno s presledki). Za dosežek pripravite diapozitiv, ki vsebuje sliko ali drugo slikovno gradivo v zvezi z izjemnim dosežkom (velikost pisave najmanj 16, približno pol strani) in opis izjemnega dosežka (velikost pisave 12, približno pol strani). Diapozitiv/-a priložite kot priponko/-i k temu poročilu. Vzorec diapozitiva je objavljen na spletni strani ARRS <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/>, predstavitev dosežkov za pretekla leta pa so objavljena na spletni strani <http://www.arrs.gov.si/sl/analize/dosez/>. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2014 v1.01

C2-DD-86-CC-61-23-70-8B-55-16-AB-E9-70-7D-B6-22-57-61-B7-FF